Münster.1933.№102 Med Diss.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. W.
Direktor: Professor Dr. H. Freund

Ueber die Beeinflussung der Methylenblauentfärbung durch die Antipyretika

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität
zu Münster i. W.

vorgelegt von

Paul Weiße, Zahnarzt
Münster i. W.

1933

Druck: Aktiengesellschaft „Der Westfale", Münster

Referent: Privatdozent Dr. Haarmann
Korreferent: Professor Dr. Freund
Dekan: Professor Dr. von Szily.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. Westf.

1933

Meinem lieben Vater gewidmet!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546002_0129

Die Frage, ob an der antipyretischen Wirkung durch die Fiebermittel neben der zentralen Beeinflussung der Wärmeregulation direkt Hemmungswirkungen auf den Gewebsstoffwechsel beteiligt sind, ist im Allgemeinen für die Wirkung am intakten Warmblüterorganismus verneint worden. Dem gegenüber stehen die Befunde Isenschmidt's am Kaninchen, das nach Halsmarkdurchschneidung künstlich poikilotherm gemacht worden ist: „an solchen Tieren führt bei gleichgehaltener Außentemperatur jede Einwirkung, die die Größe des Stoffwechsels verändert, zu einer gleichgerichteten Aenderung der Körpertemperatur." Für die Antipyretika fand er eine Steigerung des Stoffwechsels bei der Salizylsäure, eine Hemmung bei Chinin, während Antipyrin ohne Wirkung war. Da durch seine Versuchsanordnung zentrale Einflüsse ausgeschaltet wurden, schien damit bewiesen, daß am intakten Tiere die Temperatursenkung vom Wärmeregulationszentrum ausgelöst wird und zwar ganz unabhängig davon, ob der Gewebsstoffwechsel nach Ausschaltung nervöser Einflüsse gehemmt wird, unbeeinflußt bleibt oder gar gesteigert wird. Die Untersuchung überlebender Organe unter der Einwirkung von Antipyreticis hat z. T. Anderes ergeben. Da im Folgenden nicht der Sauerstoffverbrauch, sondern das Dehydrierungsvermögen, gemessen an der Methylenblauentfärbung, untersucht werden soll, liegen nur sehr wenige Angaben in der Literatur vor. Mit der Methylenblauentfärbung arbeiteten Nitzescu u. Cosma[1]) und fanden, daß in n/10 Lösung Antipyrin kaum, Natrium salizylicum sehr stark hemmend auf die Succinodehydrase wirkt; Natrium salizylicum dreimal so stark als Antipyrin. Andere Verdünnungen als n/10 wurden nicht untersucht.

Lipschitz und Freund[2]) fanden mit der Lipschitz'schen Nitrobenzolmethode eine Hemmung der „Nitroatmung" durch Chinin und Hydrocupreinhomologe.

---

[1]) Nitzescu u. Cosma: Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. Bd. 89, Nr. 37, 1401, 1923
zit. nach Ronas Berichte über die ges Physiol u. exp. Pharmakol., Bd. 25, S. 370, 1924

[2]) Lipschitz u. Freund: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., 99, 226, 1923

Die Aufgabe der folgenden Versuche war, die Beeinflussung der Dehydrierungsvorgänge der Gewebe unter der Mitwirkung einiger Antipyretika zu untersuchen.

Methodik.

Als Maß für die Größe der Dehydrierungsvorgänge im Gewebe wurde das Thunberg'sche Methylenblauverfahren angewandt. Auf Einzelheiten braucht hier nicht näher eingegangen zu werden.

Als Versuchsmaterial wurde die Skelettmuskulatur und Niere von Hund, Meerschweinchen und Kaninchen benutzt. Die einzelnen Organe wurden sorgfältig von Fett, Fascien und Sehnen befreit, dann entweder sofort zum Versuch verwandt oder in toto bei 0° aufbewahrt.

Die einzelnen Versuchsansätze enthielten: 0,2 g fein zerschnittenes Gewebe, 0,6 ccm Wasser, 0,4 ccm Methylenblau 1 : 2000 in Phosphatpufferlösung von der Wasserstoffzahl PH = 7,0 und einem Phosphatgehalt von m/7,5—PO_4. Versuche, in denen der Einfluß der Antipyretika untersucht wurde, enthielten statt 0,6 ccm Wasser 0,3 ccm der verschiedenen Verdünnungen der Antipyretika. In Zusatzversuchen, in denen der Einfluß der Antipyretika auf die Dehydrierung bestimmter zugesetzter Verbindungen untersucht werden sollte, wurden statt 0,3 ccm Wasser 0,3 ccm einer 1 %igen Lösung der Natriumsalze von Milchsäure, Bernsteinsäure, sowie Glyzerinphosphorsäure, Hexosediphosphorsäure und 1 %iger Glukose oder Glykogenlösung zugesetzt, je nach Gestaltung der einzelnen Versuche.

Untersucht wurden Verbindungen der 4 Hauptgruppen der Antipyretika und zwar:

1. **Antipyrin.**
2. **Chinin in Form von Chininum dihydrochloric.**
3. **Phenazetin.**
4. **Natrium salizylicum.**

Um die Wirkung der einzelnen Antipyretika besser miteinander vergleichen zu können, wurden aequimolare Lösungen miteinander verglichen.

Die Stammlösungen waren m 20. Hieraus wurden die entsprechenden Verdünnungen bis zu m 200 000 hergestellt.

Beim Phenazetin war wegen seiner geringen Wasserlöslichkeit die Herstellung einer m/20 Lösung nicht möglich. Die m/200 Lösung ist bereits an Phenazetin gesättigt.

Die Konzentration der Antipyretika in den Vesuchsansätzen beträgt ein Viertel der Zusätze.

Versuchsserie 1.

In den Versuchen der 1. Versuchsserie wurde der Einfluß der Antipyretika auf die Methylenblauentfärbung auf unausgewaschenes Gewebe untersucht. Die Versuchsergebnisse sind aus der Tabelle 1 und den graphischen Darstellungen ersichtlich.

Tabelle 1.

Unausgewaschenes Gewebe.
Ohne Zusatz.

Konzentration in den Versuchsansätzen	Antipyrin			Chinin			Phenazetin		Na. salizylic	
	1a	1b	2	1a	1b	2	1	2	1	2
0 · 0	20	20	18	18	18	18	25	35	25	35
$0{,}8 \cdot 10^{-6}$ m	20	20	21	19	18	24	34	42	37	48
$0{,}8 \cdot 10^{-5}$ m	20	20	24	19	18	24	35	42	37	49
$0{,}8 \cdot 10^{-4}$ m	20	20	24	20	21	24	35	44	39	49
$0{,}8 \cdot 10^{-3}$ m	22	21	25	22	22	26	43	54	45	58
$0{,}8 \cdot 10^{-2}$ m	24	25	29	78	30	30	—	—	100	100

Gewebe: Skelettmuskulatur.
Versuchstier: Hund, Meerschweinchen.

Aus den Versuchen ergibt sich, daß alle Antipyretika mit steigender Konzentration die Methylenblauentfärbung hemmen. Die Hemmungswirkung ist bereits bei der stärksten Verdünnung $0{,}8 \cdot 10^{-6}$ m nachweisbar.

Molare Lösungen der einzelnen Antipyretika sind nicht gleich wirksam. Am stärksten hemmend wirkt bei niedrigen Konzentrationen Natr. salizylicum. Die Hemmungswirkung steigt bei allen Antipyreticis bis zu $0{,}8 \cdot 10^{-3}$ m allmählich an und ist bei $0{,}8 \cdot 10^{-2}$ m beim Chinin und Natrium salizylicum sehr stark ausgeprägt.

Mandewirth[1]), der den Einfluß der Antipyretika auf die Sauerstoffzehrung untersuchte, kam zu den gleichen Feststellungen. Die graphischen Darstellungen zeigen das Verhalten der Methylenblauentfärbung zur Sauerstoffzehrung.

Die in den graphischen Darstellungen angegebenen Werte sind jeweils auf die Kontrollversuche gleich 100 bezogen. Das Dehydrierungsvermögen des Gewebes ergibt sich aus den reziproken Werten der Entfärbungszeiten. Entfärbungszeit des Kontrollversuches wurde dabei gleich 100 gesetzt. Die errechneten Werte sind mithin keine absoluten, sondern Verhältniszahlen.

Vergleicht man das Dehydrierungsvermögen des Gewebes mit dem Sauerstoffverbrauch, so ergibt sich, daß die Sauerstoffatmung des Gewebes unter der Einwirkung der Antipyretika stärker gehemmt ist als das Dehydrierungsvermögen.

Versuchsserie 2.

In Versuchsserie 1 wurde die Dehydrierung sämtlicher im unausgewaschenen Gewebe vorhandenen Brennstoffe der verschiedensten Zusammensetzung untersucht. In Versuchsserie 2 wurden durch Zusatz von Natriumlaktat die Abbaubedingungen für die Milchsäure durch Erhöhung der Laktatkonzentration verbessert und so die Wirkung der anderen Abbauvorgänge zurückgedrängt.

Aus den Versuchen (Tabelle 2) und der graphischen Darstellung geht hervor, daß auch die Dehydrierung der Milchsäure, des Endproduktes des anaeroben Kohlenhydratabbaus, in gleicher Weise gehemmt wird, wie die Summe aller im Gewebe vorhandenen Brennstoffe. Chinin und Salizylat sind

[1]) Mandewirth: Inaugural-Dissertation 1932 (im Druck)

auch hier dem Antipyrin und Phenazetin überlegen. Die Sauerstoffversuche zeigen ein gleiches Verhalten.

Tabelle 2.

Unausgewaschenes Gewebe.
Laktatzusatz.

Konzentration in den Versuchsansätzen	Antipyrin		Chinin		Phenazetin		Na. salizylic	
	1	2	1	2	1	2	1	2
0 · 0	48	60	48	60	49	59	49	59
$0{,}8 \cdot 10^{-6}$ m	53	59	68	65	59	74	75	78
$0{,}8 \cdot 10^{-5}$ m	53	59	68	68	59	77	80	81
$0{,}8 \cdot 10^{-4}$ m	58	61	68	71	59	79	85	83
$0{,}8 \cdot 10^{-3}$ m	65	78	85	80	77	92	95	99
$0{,}8 \cdot 10^{-2}$ m	64	76	145	178	—	—	110	140

Gewebe: Skelettmuskulatur.
Versuchstier: Meerschweinchen.

Versuchsserie 3.

Ein gänzlich anderes Wirkungsbild zeigen die Versuche mit zugesetztem Glykogen. Das Glykogen wird nicht direkt dehydriert, sondern erst nach Spaltung zu den einfachen Hexosen und deren Aufspaltung zu den Triosen, von denen das Methylglyoxal als Abbauproduckt sichergestellt ist. Die eigentliche Dehydrierung setzt erst bei den Triosen ein. Es zeigt sich, daß die Methylenblauentfärbung unter Glykogenzusatz mit der Einwirkung der Antipyretika nur durch höhere Konzentrationen der Antipyretika gehemmt wird. Bei stärkeren Verdünnungen, bei denen der Abbau der Milchsäure bereits sehr stark gehemmt wird, sind die Antipyretika Chinin und Phenazetin wirkungslos; Natrium-salizylat dagegen und in

besonders starkem Ausmaße das Antipyrin beschleunigen sogar die Entfärbung des Glykogens.

Tabelle 3.

Unausgewaschenes Gewebe.
Glykogenzusatz.

Konzentration in den Versuchsansätzen	Antipyrin		Chinin		Phenazetin		Na. Salizylic	
	1	2	1	2	1	2	1	2
0 · 0	40	43	40	43	49	56	49	56
$0{,}8 \cdot 10^{-6}$ m	25	33	40	44	49	56	45	53
$0{,}8 \cdot 10^{-5}$ m	35	40	40	46	49	58	50	57
$0{,}8 \cdot 10^{-4}$ m	40	45	40	48	49	58	53	66
$0{,}8 \cdot 10^{-3}$ m	46	50	53	65	58	65	74	87
$0{,}8 \cdot 10^{-2}$ m	54	56	105	138	—	—	144	171

Gewebe: Skelettmuskulatur.
Versuchstier: Meerschweinchen.

Man darf daher aus diesen Versuchen die Schlußfolgerung ziehen, daß das Glykogen nicht über die Milchsäure abgebaut wird, da die Dehydrase des Methylglyoxals auch anderen Stoffen gegenüber z. B. Halogenessigsäure usw. sich als sehr widerstandsfähig erwiesen hat, so spricht der Ausfall dieser Versuchsreihe dafür, daß der Glykogenabbau über Methylglyoxal geht.

Versuchsserie 4.

Will man den Abbau der Glukose untersuchen, so ist für diese Versuche Skelettmuskulatur nicht sehr geeignet, da sie Glukose nur in sehr geringem Umfange verwertet. Zur Verwendung kam Nierengewebe, das von allen Kohlenhydraten in erster Linie Glukose spaltet. Die Versuche (Tabelle 4) und

die graphischen Darstellungen ergeben übereinstimmend, daß der Abbau der Glukose durch alle 4 untersuchten Antipyretika gleichmäßig mit der Stärke der Konzentration gehemmt wird. Die Wirkungsstärke der Antipyretika ist dabei ungefähr gleich stark, am schwächsten hemmt das Phenazetin. Die Sauerstoffversuche zeigen ein gleiches Verhalten.

Tabelle 4.

Unausgewaschenes Gewebe.
Glukosezusatz.

Konzentration in den Versuchsansätzen	Antipyrin		Chinin		Phenazetin		Na. Salizylic	
	1	2	1	2	1	2	1	2
0 · 0	45	50	45	50	49	48	49	48
0,8 · 10 — 6 m	57	64	57	67	60	50	64	62
0,8 · 10 — 5 m	57	66	57	69	60	50	64	63
0,8 · 10 — 4 m	57	66	57	71	60	52	64	63
0,8 · 10 — 3 m	59	73	82	76	62	56	73	72
0,8 · 10 — 2 m	75	92	96	97	—	—	85	83

Gewebe: Niere.
Versuchstier: Hund.

Versuchsserie 5.

In den bisherigen Versuchen wurde unausgewaschenes Gewebe benutzt, das eine große Anzahl verschiedenartiger Brennstoffe in unübersehbaren Mengen und Verhältnissen enthält. Zur Untersuchung bietet die Auswaschung des Gewebes die Möglichkeit, sämtliche Nährstoffe und einen Teil der Fermente zu entfernen. In solchem Material ist die Dehydrase der Bernsteinsäure, Hexosediphosphorsäure und Glyzerinphosphorsäure allein wirksam.

Durch Zusatz der Salze dieser drei Säuren kann man also den Abbau dieser Verbindungen unbeeinflußt durch andere zur Untersuchung bringen.

Die Antipyretika lassen sich nach ihrem Verhalten gegen die Succinodehydrase in zwei Gruppen teilen. Die erste Gruppe Antipyrin und Chinin hemmen zunehmend mit steigender Konzentration, besonders stark das Chinin. Die zweite Gruppe umfaßt das Phenazetin und das Natrium salizylat. Sie verzögern die Methylenblauentfärbung bereits in stärkster Verdünnung. Die Hemmungswirkung nimmt mit zunehmender Konzentration nicht weiter zu, erst die stärkste Konzentration bewirkt eine weitere Verlängerung der Methylenblauentfärbungszeiten. Die Versuche mit der Sauerstoffzehrung ergeben dagegen ein Parallelgehen der Hemmung der Sauerstoffaufnahme mit steigender Konzentration auch bei diesen letzten beiden.

Tabelle 5.

Ausgewaschenes Gewebe.
Bernsteinsäurezusatz.

Konzentration in den Versuchsansätzen	Antipyrin		Chinin		Phenazetin		Na. Salizylic	
	1	2	1	2	1	2	1	2
0 · 0	28	35	28	35	28	32	28	32
— 6								
0,8 · 10 m	28	37	30	40	45	47	55	52
— 5								
0,8 · 10 m	28	40	33	45	45	47	55	52
— 4								
0,8 · 10 m	38	42	38	50	45	47	55	52
— 3								
0,8 · 10 m	38	45	45	56	48	51	55	52
— 2								
0,8 · 10 m	40	49	90	114	—	—	65	66

Gewebe: Skelettmuskulatur.
Versuchstier: Hund, Kaninchen.

Versuchsserie 6.

Ein anderes Bild bringen die Versuche mit Glyzerinphosphorsäure. Hier ist vor allen Dingen die Hemmungswirkung des Antipyrin schon bei starken Verdünnungen auffallend; sie steigt mit zunehmender Konzentration an. Die übrigen

Antipyretika hemmen erst in stärkeren Lösungen. Die verdünnten Lösungen haben keinen nennenswerten Einfluß. Hervorzuheben ist vor allen Dingen das Natriumsalizylat, das im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Fermentreaktionen den Abbau der Glyzerinphosphorsäure nicht nennenswert beeinflußt. Die Verhältnisse liegen also ähnlich wie bei den Versuchen mit Glykogen.

Tabelle 6.

Ausgewaschenes Gewebe.
Glyzerinphosphorsäurezusatz.

Konzentration in den Versuchsansätzen	Antipyrin		Chinin		Phenazetin		Na. Salizylic	
	1	2	1	2	1	2	1	2
0 · 0	50	49	45	49	45	65	50	65
0,8 · 10 — 6 m	68	71	50	68	48	70	50	67
0,8 · 10 — 5 m	68	71	50	71	48	70	50	67
0,8 · 10 — 4 m	70	71	53	74	48	70	50	67
0,8 · 10 — 3 m	72	73	55	76	65	82	55	72
0,8 · 10 — 2 m	75	78	91	95	—	—	70	84

Gewebe: Skelettmuskulatur.
Versuchstier: Hund.

Versuchsserie 7.

Die Beeinflussung des Abbaus der Hexosediphosphorsäure durch die Antipyretika haben mit der Einwirkung dieser Stoffe auf den Glykogenabbau die größte Aehnlichkeit. Abweichend von allen übrigen untersuchten Fermentreaktionen wirken die Antipyretika in starken Verdünnungen fördernd. Mit steigender Konzentration setzt eine immer stärker werdende Hemmung ein, die wie beim Glykogen, beim Na. salizylat und Chinin sehr stark in Erscheinung tritt. Das gleichartige Verhalten des Abbaus von Glykogen und Hexosediphosphat unter

der Einwirkung der Gifte liefern uns einen Beitrag dafür, daß beim Abbau dieser Verbindung die gleichen Zwischenstufen durchlaufen werden müssen.

Tabelle 7.

Ausgewaschenes Gewebe.
Hexosodiphosphorsäurezusatz.

Konzentration in den Versuchsansätzen	Antipyrin		Chinin		Phenazetin		Na. Salizylic	
	1	2	1	2	1	2	1	2
0 · 0	25	29	25	29	25	33	25	33
0,8 · 10 — 6 m	18	22	23	28	31	36	19	27
0,8 · 10 — 5 m	30	26	28	36	34	37	32	38
0,8 · 10 — 4 m	30	34	35	40	34	39	32	38
0,8 · 10 — 3 m	30	34	39	43	42	44	48	45
0,8 · 10 — 2 m	30	36	71	75	—	—	68	61

Gewebe: Skelettmuskulatur.
Versuchstier: Kaninchen.

Zusammenfassung.

Der besseren Uebersicht wegen sind die Gesamtergebnisse der Versuche in den folgenden graphischen Darstellungen noch einmal zusammengefaßt. Das Dehydrierungsvermögen des Gewebes ohne Zusatz der Antipyretika ist = 100 gesetzt. Werte unter 100 bedeuten also eine Hemmung der Dehydrierungsvorgänge, Werte über 100 eine Steigerung der Dehydrierungsvorgänge.

Es ergibt sich daraus, daß die einzelnen Fermentreaktionen durch die aequimolare Lösung der Antipyretika:

Antipyrin
Chinin
Phenazetin
Natrium salizylicum

ganz verschieden stark beeinflußt werden.

Lebenslauf.

Am 17. 8. 91 wurde ich, Paul Weiße, zu Münster-Westf. geboren. Nach dreijährigem Unterricht in der Vorschule zu Münster besuchte ich von Ostern 1901 bis Ostern 1907 das Schillergymnasium daselbst. War bis zum Ausbruch des Krieges im Vorbereitungsdienst für die Beamtenlaufbahn an der Stadtverwaltung Münster tätig, trat 1914 in den Heeresdienst ein, wurde 1917 zum Offizier ernannt und wollte nach Beendigung des Feldzuges Berufsoffizier bleiben, mußte aber infolge der Heeresverminderung 1920 aus dem Heeresdienst ausscheiden. Alle Versuche um Wiedereinstellung in den Verwaltungsdienst scheiterten infolge der Beamteneinstellungssperre und des Beamtenabbaues. Im Herbst 1927 begann ich mein zahnärztliches Studium in Münster, zunächst mit kleiner Matrikel, legte Ostern 1930 anstelle der Reifeprüfung die Begabtenprüfung in Berlin ab und bestand im Juni 1932 das zahnärztliche Staatsexamen.